

ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ В СОСТАВЕ РЫБНОГО БУЛЬОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ПИГМЕНТА ВИОЛАЦЕИНА ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ *JANTHINOBACTERIUM LIVIDUM*

*Сауткина Наталья Владимировна, ассистент,
Костюшевская Мария Андреевна, студент
Прокулевич Владимир Антонович, д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии
Белорусский государственный университет*

Введение. Внутриклеточный пигмент фиолетового цвета виолацеин, впервые описанный еще в 1882 г., вырабатывается ограниченным числом видов грамотрицательных бактерий. Результаты же многих исследований показали, что виолацеин обладает антибактериальной, противовирусной, антипротозойной и противоопухолевой активностями [1]. В 2015 году из почвы по ул. Курчатова, д. 10, г. Минск выделены психротрофные штаммы бактерий, отнесенные к виду *J. lividum* и обозначенные как *J. lividum* SoNa–1 и *J. lividum* SoNa–2, отличающиеся скоростью накопления виолацеина. Известно, что состав питательной среды влияет на способность бактерий синтезировать те или иные продукты вторичного метаболизма, например, пигменты и антибиотики. Продукция пигмента виолацеина бактериями *J. lividum* находится в зависимости от источника углерода и фазы роста культуры [1]. Целью данной работы является изучение влияния дополнительных источников углерода и энергии в рыбном бульоне на характер роста штаммов и накопление ими пигмента виолацеина.

Материалы и методы. Для построения кривых роста ночные культуры штаммов *J. lividum* SoNa–1 и *J. lividum* SoNa–2 разводили в 20 раз в 100 мл рыбного бульона или рыбного бульона с добавками (по 1 % (масса добавки/объем питательной среды) сахарозы, декстрозы, глицерина,) и культивировали при температуре 18 °С и 180 об/мин в течение 5 суток, измеряя значения оптических плотностей культур (λ 600 нм) ежедневно. Выделение пигмента виолацеина проводили по методу R.S. Blosser и К.М. Gray и определяли его относительное количество [3].

Результаты исследования. Ранее нами было установлено, что добавление к твердым питательным средам рыбному агару и LB–агару дополнительного источника углерода и энергии (глицерина, декстрозы или сахарозы) в количестве 1 % положительно влияет на накопление штаммами пигмента виолацеина [2]. Отмечено также, что при культивировании бактерий в рыбном бульоне и LB–бульоне фиолетовый пигмент эффективнее синтезируется в рыбном бульоне.

На рисунках 1 и 2 представлены кривые роста штаммов *J. lividum* SoNa–1 и *J. lividum* SoNa–2 при выращивании на рыбном бульоне (РБ) с добавлением дополнительных источников углерода и энергии (глицерина, декстрозы или сахарозы).

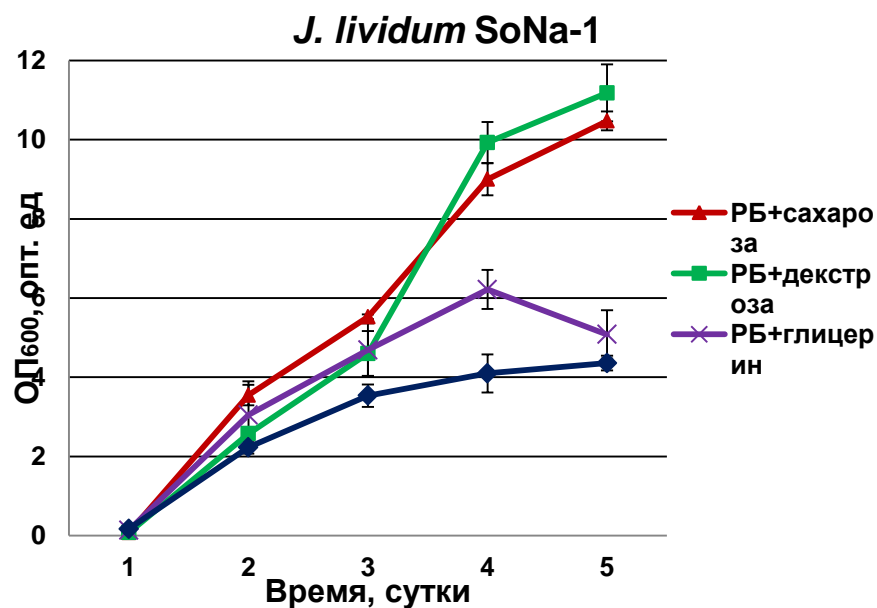


Рисунок 1 – Изменение оптической плотности культуры штамма *J. lividum* SoNa-1 во времени при культивировании в рыбном бульоне с дополнительными источниками углерода и энергии

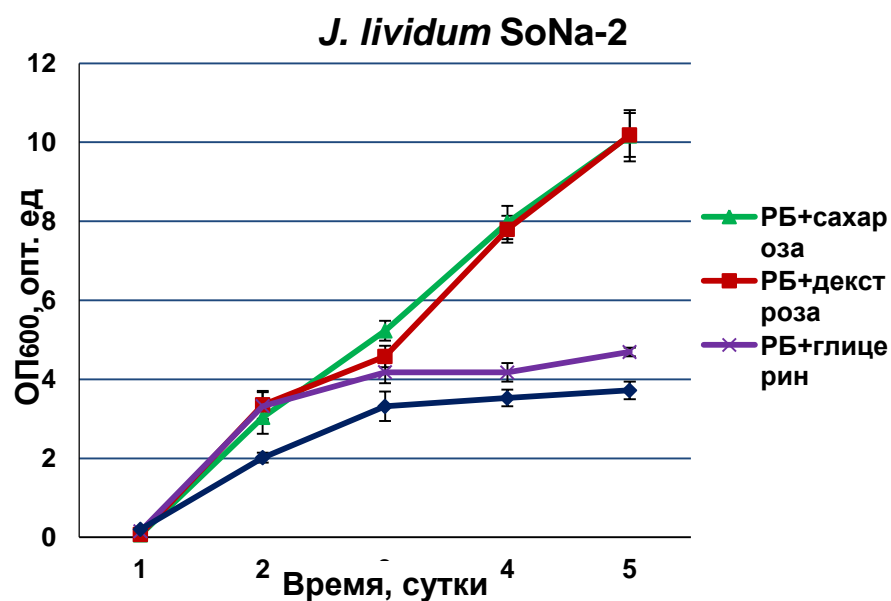


Рисунок 2 – Изменение оптической плотности культуры штамма *J. lividum* SoNa-2 во времени при культивировании в рыбном бульоне с дополнительными источниками углерода и энергии

Выявленные параметры роста штаммов позволяют заключить, что на средах с дополнительными источниками углерода и энергии оптическая плотность обеих культур выше, чем на среде без них, что закономерно. При этом культуры обоих штаммов достигают наибольших значений оптической плотности в присутствии в рыбном бульоне декстрозы и сахарозы, но не глицерина.

Для оценки количества синтезируемого пигмента из клеток исследуемых штаммов, выросших в рыбном бульоне с добавками и без добавок (отрицательный контроль) на 5-е сутки культивирования пигмент виолацеин экстрагировали бутанолом и определяли оптическую плотность раствора при длине волны 585 нм (таблица).

Таблица – Относительное количество виолацеина, рассчитанное как отношение оптической плотности бутанолового экстракта ($ОП_{585}$) к оптической плотности культуры штамма ($ОП_{600}$)

Питательная среда Штамм	РБ	РБ+глицерин	РБ+сахароза	РБ+декстроза
<i>J. lividum</i> SoNa-1	0,22±0,11	0,35±0,05	0,14±0,004	0,17±0,04
<i>J. lividum</i> SoNa-2	0,2±0,09	0,52±0,14	0,12±0,03	0,1±0,4

Примечание: «±» – указано стандартное отклонение.

Пигмент виолацеин в клетках при культивировании обоих штаммов в рыбном бульоне с глицерином накапливается в большем количестве, как по сравнению с контролем, так и с другими исследованными средами, даже не смотря на значительно меньшее количество клеток. Частично, высокое накопление пигмента в клетках на среде с глицерином объясняется более ранним, по сравнению с культурами, росшими на других дополнительных источниках углерода, входом в стационарную фазу. Однако сравнение с контрольной культурой однозначно свидетельствует в пользу того, что именно присутствие в среде глицерина стимулирует накопление пигмента в клетках исследованных штаммов.

Таким образом, установлено, что наличие в рыбном бульоне дополнительного источника углерода и энергии (сахарозы и глицерина, или сахарозы и декстрозы по 1 % каждого) стимулирует рост бактерий, однако прямая зависимость между оптической плотностью культур штаммов *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 и уровнем внутриклеточного накопления виолацеина не выявлена. При этом подтверждены литературные данные о положительном влиянии глицерина на синтез виолацеина [1].

Список использованных источников

1. Violacein and biofilm production in *Janthinobacterium lividum* / F. Pantanella [et al.] // Journal of Applied Microbiology. – 2007. – Vol. 102, No 4. – P. 992–1000.
2. Определение условий культивирования, оптимальных для накопления фиолетового пигмента штаммами бактерий *Janthinobacterium lividum*, выделенными из природных источников / Н.В. Совгир [и др.] // Биология – наука XXI века: сборник тезисов 22-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых, Пущино, 23–27 апреля 2018 г. / Пущинский науч. центр РАН, Пущинский гос. ун-т; редкол.: А.И. Мирошников [и др.]. – Пущино, 2018. – С. 312–313.

3. Blosser R.S. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers / R.S. Blosser, K.M. Gray // Journal of Microbiological Methods – 2000. –Vol. 40, No 1. – P. 40–55.